

HARNANALYSE MIT DER ZYTOZENTRIFUGE

Albert Brandl

1976

Aus der Hämatologischen Abteilung
(Leiter: Prof. Dr. Fritz Lampert)
der Universitäts-Kinderklinik München
(Direktor: Prof. Dr. Klaus Betke)

HARNANALYSE MIT DER ZYTOZENTRIFUGE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Albert Brandl
aus München

1976

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter:

Prof. Dr. Fritz Lampert

Mitberichterstatter:

Prof. Dr. Klaus Betke

Dekan:

Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung:

4. 5. 1976



Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Materialien und Methoden	2
3. Ergebnisse	5
3.1. Morphologie	5
3.1.1. Färbungen	5
3.1.2. Leukozyten	5
3.1.3. Erythrozyten	6
3.1.4. Epithelzellen	6
3.1.5. Zylinder	7
3.1.6. Bakterien	7
3.2. Quantitative Ergebnisse	12
3.2.1. Leukozytenzahlen bei unterschiedlicher Zentrifugationsdauer und -geschwindigkeit	12
3.2.2. Korrelation zwischen Bakterien und Leukozyten bei unterschiedlichen Zentrifugationsdauern	13
3.2.3. Reproduzierbarkeit einer für die Auswertung ausreichenden Leukozytenzahl	15
3.2.4. Anteil der zerstörten Zellen	16
3.2.5. Korrelation zwischen Leukozyten in Urin und weißem Blutbild	22
3.2.6. Quantitative Korrelationen zwischen Ergebnissen verschiedener Methoden	23
3.2.6.1. Zytozentrifugation - Leukozytenzählung in der Fuchs-Rosenthal-Zählkammer	23
3.2.6.2. Leukozytenzahl auf dem Zytozentrifugenpräparat - bakterielle Urinkultur	25
3.2.6.3. Bakterienzahl auf dem Zytozentrifugenpräparat - bakterielle Urinkultur	27
4. Diskussion	29

5.	Zusammenfassung	Seite 32
6.	Literaturverzeichnis	33

1.

E I N L E I T U N G

Harnwegsinfektionen sind häufig und stellen wegen ihrer Neigung zu Rezidiven und chronischen Verläufen zugleich ernst zu nehmende Erkrankungen dar (19, 29, 52, 39,2). Sie beginnen oft bereits in früher Kindheit, begleiten einen Menschen bis in das Erwachsenenalter hinein und können bis zur Zerstörung der Nieren und zum Nierenversagen führen (2,31). Diesen möglichen schwerwiegenden Folgen steht ein insbesondere im Kindesalter in vielen Fällen schleichender und symptomarmer Verlauf entgegen, der häufig unentdeckt bleibt oder zumindest das Stellen der Diagnose verzögert (19, 30,27,52,18).

Daraus ergibt sich die große Bedeutung diagnostischer Methoden, die eine rechtzeitige Einleitung der Therapie ermöglichen. Der Harnanalyse kommt hierbei die wichtigste Rolle zu (31). Im Laufe der Zeit wurden verschiedene Verfahren entwickelt und verbessert, mit denen aber immer noch keine ganz befriedigenden Ergebnisse erzielt werden können.

Die Untersuchung auf Zellen und Bakterien im Sediment führt in zirka 20 % zu falsch negativen Ergebnissen und wird von vielen Autoren als zu ungenau abgelehnt (30,38,19,25,52). Die Schwierigkeiten, die sich hierbei in der Verwendung von Zentrifugen mit verschiedenem Durchmesser ergaben, als auch darin lagen, daß Zellen und Bakterien auf einem größeren Bereich über den Objektträger verteilt waren und ihre Anzahl stark von der Sorgfalt des Untersuchers beim Dekantieren abhing, lassen sich nun durch ein neues Verfahren ausschalten. Seit 1966 (watson) findet in der Zytodiagnostik aus dem Liquor und aus anderen Körperflüssigkeiten die Shandon-Zytozentrifuge¹⁾ Anwendung (48,22,51,

1) Shandon-Elliott-Zytozentrifuge, Firma Shandon Labortechnik GmbH, Karl-von-Drais-Straße 18, 6000 Frankfurt 50

3,25,24,9). Sie ermöglicht das Aufbringen von Zellen einer Suspension auf einen umschriebenen Bereich des mikroskopischen Objektträgers, wobei die Morphologie der Zellen gut erhalten wird und selbst aus Suspensionen mit sehr geringer Zellkonzentration eine ausreichende Anzahl von Zellen angereichert wird. Hierzu ist im Gegensatz zur herkömmlichen Anfertigung von Präparaten aus Sediment nur ein einziger Arbeitsgang erforderlich (die nachfolgende Färbung nicht eingeschlossen). Auf Grund der gleichbleibenden Lokalisation des zellreichen Bezirkes auf den Objektträgern erübrigt sich bei der Untersuchung einer Serie von Präparaten die jeweilige Neueinstellung des Mikroskopes (48).

In der vorliegenden Untersuchung wird auf die Anwendung der Zytocentrifuge zur Harnanalyse eingegangen.

2.

M A T E R I A L I E N U N D M E T H O D E N

172 Urinproben von säuberlich gewonnenem Mittelstrahlurin von 67 Kindern - vorwiegend Mädchen - wurden im Rahmen einer wöchentlich stattfindenden Spezialsprechstunde für Harnweginfekte gesammelt.

Jede Probe wurde drei verschiedenen Untersuchungen unterworfen:

1) Von einem Anteil wurde eine Kultur auf Endoagar und Blutagar angelegt. Die Keimzahl pro ml Urin wurde bestimmt. Mittels bakteriologischer und biochemischer Standardmethoden fand eine Identifizierung der Keime statt.

2) Ein zweiter Anteil wurde nach guter Durchmischung der Probe entnommen und in einer Fuchs-Rosenthal-Zählkammer nach der Methode von Stansfeld und Webb untersucht (42,53). Die Zahl der Leukozyten und Erythrozyten pro mm^3 wurde bestimmt. Das Vorhandensein von Bakterien und Epithelien wurde miterfaßt.

3) Ein dritter Anteil wurde zunächst bis zur Beendigung der Sprechstunde, also für die Dauer von ein bis höchstens zwei Stunden in einem gekennzeichneten Plastikröhrchen aufbewahrt, und zwar bei 61 Proben ungekühlt bei Raumtemperatur und bei 111 Proben gekühlt in einer mit Eis gefüllten Plastikschaale bei Raumtemperatur. Bei 8 Proben wurden einige Tropfen fetales Kälberserum dem Urin zugesetzt.

Anschließend wurden von jeder der so aufbewahrten Proben mittels Pasteur-Pipetten 5 Tropfen (= 0,2 ml) in jeweils eine Plastikkuvette (Watson: "slide locating block") gefüllt. Jede dieser Plastikkuvetten besitzt ein Kanälchen, in dessen trichterförmigen vertikalen Teil man von oben die Probe eintropft. Durch den horizontal und zentrifugal verlaufenden Teil des Kanälchens wird die Flüssigkeit auf einen umschriebenen Bereich eines angrenzenden Objektträgers aufgeschleudert. Ein zwischen Kammer und Objektträger befindlicher Filterpapierstreifen ist an dieser Stelle mit einer Öffnung von 7 mm Durchmesser versehen. Durch das Filterpapier wird die Flüssigkeit aus dem Bereich dieser Öffnung abgesaugt, und es bleiben nur die in ihr suspendierten Zellen und anderen festen Teilchen auf dem Objektträger zurück (48).

Die Proben wurden dann mit 1000 upm (Umdrehungen pro Minute) 3 Minuten lang zentrifugiert. Diese Geschwindigkeit und Zeitdauer haben sich bereits bei der Li-quordagnostik bewährt (25). Sie ergaben gute Resultate hinsichtlich erhaltener Zellmorphologie bei ausreichender quantitativer Ausbeute an Zellen, wie vergleichende Versuche mit 20 Präparaten bei 5 Minuten Dauer und 600 upm bzw. 350 upm erwiesen. Bei den niedrigeren Zentrifugationsgeschwindigkeiten wurde die quantitative Ausbeute merklich geringer, ohne wesentliche Verbesserung der Zellmorphologie. Verschiedene Autoren empfehlen andere Werte: watson (1966): 1500 upm, 5 min; Ben-

net (1968): 600 upm, 6 min; Woodruff (1973): 500 - 1000 upm, 5 min.

Nach der Zentrifugation wurden die Objektträger 10 min an der Luft getrocknet, da sofortiges Färben nach Entnahme aus der Zentrifuge in einigen Fällen zum Abschwemmen der Zellen geführt hatte. Anschließend wurden die Präparate in der Übersichtsfärbung nach Pappenheim und in 17 Fällen zusätzlich nach Gram gefärbt. Um das Auffinden des mit Zellen behafteten Bereiches unter dem Mikroskop zu erleichtern, wurde dieser auf der Rückseite des Objektträgers gekennzeichnet. Hierzu wurde mit einem Tintenstift ein Kreis gezogen, wobei einer der perforierten Filterpapierstreifen als Schablone diente.

Doppelpräparate wurden in 36 Fällen angefertigt, um die Reproduzierbarkeit einer ausreichenden quantitativen Ausbeute an Zellen zu überprüfen.

Bei der mikroskopischen Auswertung wurde folgendermaßen vorgegangen: Die Leukozyten wurden entsprechend einem weißen Differentialblutbild bis 100 oder zumindest bis zu der höchsten auffindbaren Menge unter 100 ausgezählt. In Relation zur Leukozytenzahl wurden ebenfalls Epithelzellen und zerstörte, nicht mehr eindeutig identifizierbare Zellen ausgezählt. Bakterien wurden semi-quantitativ erfasst (siehe Abb. 8). Intrazelluläre Lagerung und grobe morphologische Kennzeichen (Stäbchen, Kokken, Lagerung, Größe) wurden mit berücksichtigt.

3. ERGEBNISSE

3.1. Morphologie

3.1.1. Färbungen

Färbungen erlauben besseres morphologisches Studium (20). Die panoptische Färbung nach Pappenheim zeigte sich der Gram-Färbung überlegen (24). Zum einen wurden in Präparaten mit Gram-Färbung wesentlich mehr Zellen zerstört, zum anderen genügte zur groben Differenzierung der Bakterien die Berücksichtigung allein morphologischer Merkmale, wie sie in der Pappenheim-Färbung zur Darstellung kommen.

3.1.2. Leukozyten

Bei leukozytenreichen Urinproben entstand ein makroskopisch gut erkennbarer, angefärbter Fleck auf dem Objektträger. Mikroskopisch fand man an dieser Stelle Leukozyten, welche die gleiche Morphologie besaßen, wie wir sie von Blutaussstrichen her kennen.

Den zahlenmäßig größten Anteil bildeten bei Pyurien neutrophile Granulozyten, die gut von anderen Zellarten unterschieden werden konnten. Lymphozyten waren an den Leukozyten zu 0 - 10 % beteiligt; gelegentlich erreichten sie auch höhere Werte bis zu 30 %. In der Literatur wechseln die Angaben über die Lymphozytenausscheidung bei Harnwegsinfektionen: Kaye (1958): 0 %; Stolze (1969): durchschnittlich zirka 20 %.

Vereinzelte traten auch Monozyten und Histiozyten auf (siehe auch 21). In zwei Präparaten war ein eosinophiler und in einem ein basophiler Granulozyt zu erkennen.

In vielen Fällen litt die Gestalt der Zellen unter der Einwirkung des Urins und möglicherweise auch der Prä-

paration, wenn auch letztere einen wesentlich geringeren zellzerstörenden Einfluß ausübt als die normale Sedimentation (51,3). Man sah sowohl pyknotische kleine Zellkerne als auch ein Auseinanderfließen der Kerne und Zellen. Ähnlich beschreibt Richter (1968) die Zellauflösung bei Pyurien: "Aus der stabilen Zellmembran scheinen Kern und Granula herauszufließen, so daß ein leerer Leukozytenschatten übrigbleibt." Nicht mehr von vornherein eindeutig identifizierbare, zerstörte Zellen ließen sich unter folgenden Gesichtspunkten den Leukozyten zuordnen: Es fanden sich Übergangsformen, die von stark deformierten, aber noch identifizierbaren Zellen hinüberleiten zu bloßen Kernschatten. Diese Kernschatten entsprachen hinsichtlich Farbdichte und Farbton meist den intakten Leukozytenkernen. Im Urin auch vorkommende Epithelzellen schienen unter seiner Einwirkung keine solchen starken Veränderungen zu erfahren. Das Zytoplasma der Epithelzellen zeigte zudem eine zu ausgeprägte Basophilie, und ihr Kern war zu groß, als daß die primär nicht identifizierbaren Zellen ihrer Herkunft nach auf sie zurückgeführt werden konnten. Auf die Faktoren, die den Gehalt an zerstörten Zellen beeinflussen, wird unter 3.2.3. eingegangen.

3.1.3. In einer Anzahl von Präparaten kamen Erythrozyten vor, erkennbar als blasse, fast farblose, aber scharf umgrenzte Scheibchen.

3.1.4. E p i t h e l z e l l e n

In wechselndem Anteil an der Gesamtzellzahl von 0 bis 100 % traten verschiedene Arten von Harnwegsepithelzellen auf. Neben großen, polygonal begrenzten Blasenepithelzellen mit ausgedehntem, hellen Zytoplasma und ovalem Kern mit grobkörnig bis schollig aufgelockertem Chromatin waren auch wesentlich kleinere Epithelzellen

mit schmalem, stärker basophilem Zytoplasma vertreten. Diese waren kaum größer als segmentkernige Granulozyten oder Lymphozyten und dürften bei Zählungen in der Fuchs-Rosenthal-Kammer des öfteren Anlaß zu Verwechslungen geben (Abb. 1) (34,33,32,15).

3.1.5. Zylinder

Epithelien traten gelegentlich in Verbänden, Granulozyten in Gruppen auf, ohne daß man eine eindeutige Zylinderform erkennen konnte; diese war möglicherweise durch das Zentrifugieren beeinträchtigt worden (12).

3.1.6. Bakterien

Die Morphologie der Bakterien zeigen die Abbildungen 2 bis 5.

Abb. 2 läßt besonders gut kleine Gruppen von Staphylokokken neben dem Wachstum anderer Keime erkennen.

Enterokokken oder Streptokokken lassen sich von anderen Bakterien durch ihre kettenförmige Anordnung morphologisch gut unterscheiden, wobei sie diese selbst im Zytoplasma phagozytischer Granulozyten (Abb. 3a, b) (50) beibehalten.

Gruppen einer Monokultur von Stäbchen zusammen mit mehr als 100 Granulozyten pro mm³ Urin sind ein beinahe sicherer Beweis für das Vorliegen einer bakteriellen Harnwegsinfektion (Abb. 4a,b) (24).

Klebsiellen wurden als plumpe Stäbchen in einigen Präparaten in Massen gefunden. Sie wiesen auch verlängerte fadenartige Formen auf, wie sie nach längerer Chemotherapie des öfteren gesehen werden können (Abb. 5a, b).

Gelegentlich umgaben sie vollständig einen Granulozyten, offenbar der Zellmembran anhaftend, bevor sie phagozytiert wurden (Abb. 5c). Sie sammelten sich auch

um eine Gruppe von Nierenepithelzellen, was möglicherweise auf einen Mitbefall des Nierenparenchyms hindeutet (Abb. 5b) (24).

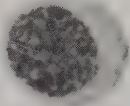


Abbildung 1: Leukozyt und kleine Epithelzelle, 9 Jahre altes Mädchen. Seit 6 Jahren Harnwegsinfektion mit 20 Rezidiven. Keine Leukozyturie ($5/\text{mm}^3$ Urin). 48 % Leukozyten, 52 % Epithelzellen.

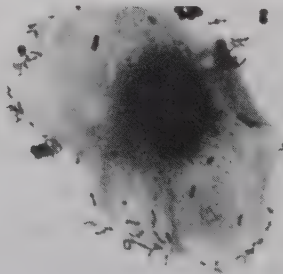


Abbildung 2: Staphylokokken in einer Mischkultur. Keine Granulozyten. 14 Jahre altes Mädchen, Harnwegsinfekt erstmalig vor 11 Jahren. Urinkultur mit mehr als 10^5 hämolysierenden Staphylokokken/ml Urin.

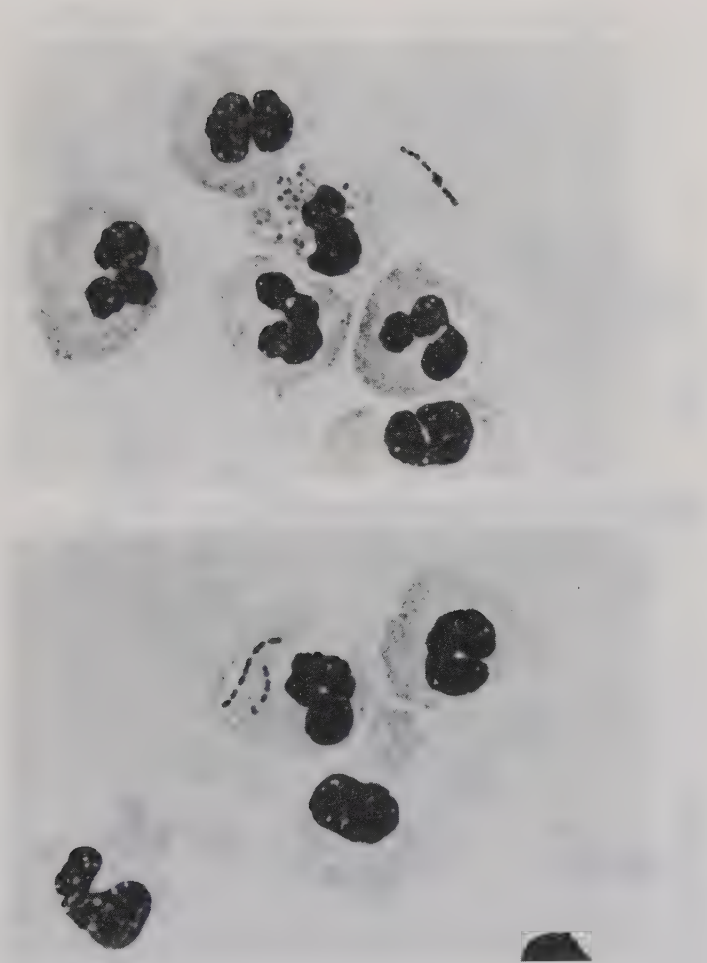


Abbildung 3a, b: Streptokokken

5 Jahre altes Mädchen mit Doppelnieren rechts.

Seit 4 Jahren Harnwegsinfektionen.

Leukozyturie ($125/\text{mm}^3$ Urin; 3 % stab., 92 % seg.,

5 % Lymph.). Mehr als 10^5 Streptokokken pro ml Urin in der Kultur. In der Zählkammer wurden keine Bakterien gesehen!

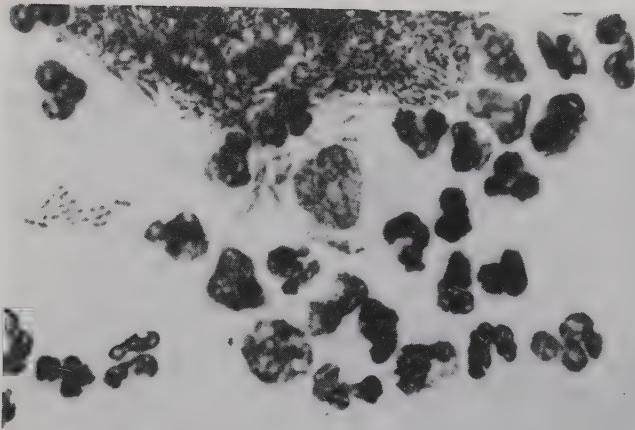
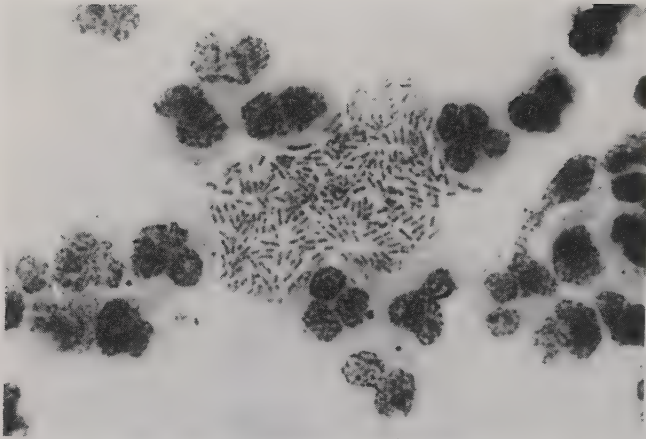


Abbildung 4a, b: Escherichia Coli und Granulozyten in Haufen zusammengelagert.

5 Jahre altes Mädchen mit Bauchschmerzen und Nykturie. Leukozyturie (über $100/\text{mm}^3$ Urin); 1 % stab., 97 % seg., 2 % Lymph.). Urinkultur mit mehr als 10^5 E. Coli/ml Urin.

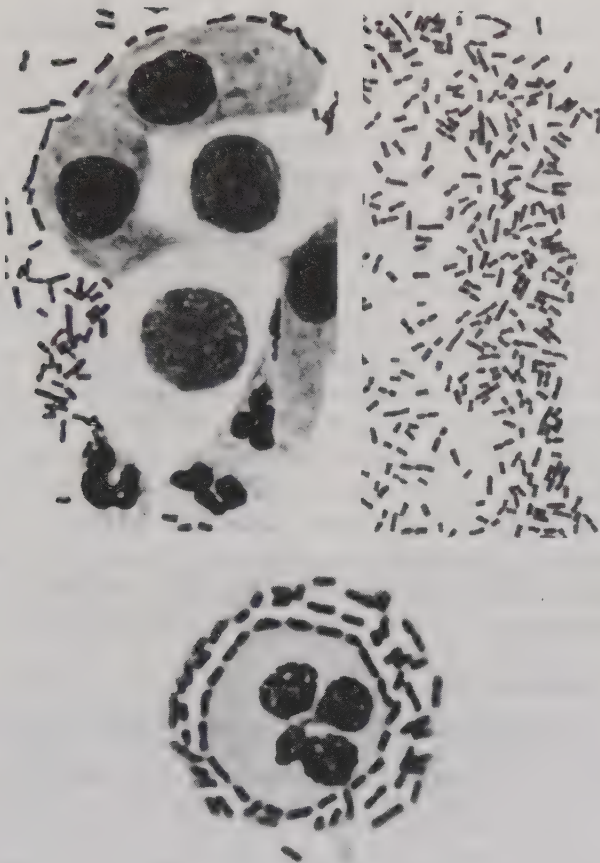


Abbildung 5a, b, c: Klebsiellen. a, b: 10 Jahre altes Mädchen mit rezidivierenden Harnwegsinfekten (9x) seit Säuglingsalter. Leukozyturie ($200/\text{mm}^3$ Urin; 1 % stab., 99 % seg.). Man beachte die fadenartigen Formen und die Gruppe der Nierenepithelzellen, deren Mitbefall möglicherweise auf eine chronische Mitbeteiligung des Nierenparenchyms hindeutet. c: 8 Jahre altes Mädchen. Rezidivierende Harnwegsinfektionen mit Beginn im Säuglingsalter. Leukozyturie ($140/\text{mm}^3$ Urin; 2 % stab., 97 % seg., 1 % Lymph.).

3.2. Quantitative Ergebnisse

3.2.1. Leukozytenzahlen bei unterschiedlicher Zentrifugationsdauer und -geschwindigkeit

Tab. I zeigt, daß ein Herabsetzen der Zentrifugationsgeschwindigkeit von 1000 upm auf 300 upm auch bei Verlängerung der Zentrifugationsdauer von 3 min auf 5 min eine starke zahlenmäßige Reduzierung der auf dem Präparat auffindbaren Zellen um durchschnittlich 95 % bewirkt. Bei einer Verringerung der Zentrifugationsgeschwindigkeit von 1000 upm auf 600 upm und einer Verlängerung der Zentrifugationsdauer von 3 min auf 5 min erfolgte eine Reduzierung der Leukozytenzahl um lediglich durchschnittlich 27 %, wobei durch das schonendere langsame Zentrifugieren keine erkennbare Veränderung des Anteils an zerstörten Zellen oder eine bessere Erhaltung der Morphologie erzielt werden konnte (siehe Tab. II).

Tabelle I

s. = stabkernige, seg. = segmentkernige, neutrophile Granulozyten, ly. = Lymphozyten, su. = Summe

Nr.	Präp. Leukozyten								zerstörte Zellen		Epithelzellen	
	I. 1000 upm 3'				II. 300 upm 5'							
	s.	seg.	ly.	Su.	s.	seg.	ly.	Su.	I.	II.	I.	II.
1	-	3	-	3	-	-	-	-	6	-	25	-
2	1	96	3	100	-	2	-	2	5	-	10	1
4	-	20	-	20	-	6	-	6	56	4	13	4
5	-	16	6	22	-	-	-	-	76	-	42	-
17	-	92	8	100	-	5	-	5	46	-	17	-
11	-	19	-	19	-	3	-	3	3	2	362	72
16	-	3	-	3	-	-	-	-	23	-	1	-
19	-	8	-	8	-	-	-	-	133	-	10	-
18	-	34	4	38	-	-	-	-	21	-	25	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	6	8

1) In den Tabellen werden nur Präparate aufgeführt, auf denen ein zumindest minimaler Bestand an Zellen zu sehen war.

Verschiedene Autoren empfehlen unterschiedliche Zentrifugationsdaten: Watson (1966): 1500 upm, 5 min; Bennet (1968): 600 upm, 6 min; woodruff (1973): 500 - 1000 upm, 5 min.

Auf Grund der guten Erfahrungen, die bereits in der routinemäßigen Liquordiagnostik mit 1000 upm und 3 min gemacht worden waren, fanden diese Werte auch in der vorliegenden Untersuchung Anwendung (25).

Tabelle II

Nr.	Präp. Leukozyten								zerstörte Zellen		Epithelzellen	
	I. 1000 upm 3'				II. 600 upm 5'				I.	II.	I.	II.
	s.	seg.	ly.	Su.	s.	seg.	ly.	Su.				
3	-	5	-	5	-	3	1	4	34	138	15	12
6	-	1	1	2	-	-	-	-	48	18	136	87
8	-	88	2	90	-	-	-	-	26	21	10	4
11	-	1	-	1	-	-	-	-	1	2	150	12
13	-	7	-	7	-	1	-	1	3	-	186	56
15	-	3	-	3	-	-	-	-	7	4	73	8
18	-	8	-	8	1	99	-	100	22	48	-	-
22	-	58	-	58	-	2	-	2	32	11	3	4
23	1	91	8	100	-	95	5	100	44	96	9	4

3.2.2. Korrelation zwischen Bakterien und Leukozyten bei verschiedenen Zentrifugationsdauern

Es wurden von zwei Urinproben je zwölf Zytozentrifugenpräparate angefertigt. Davon wurden je sechs bei einer Zentrifugationsdauer von 3 min und sechs bei einer Zentrifugationsdauer von 10 min mit jeweils 1000 upm zentrifugiert. Bei der Auswertung wurden auf jedem Präparat in 8 Gesichtsfeldern Bakterien und Leukozyten gezählt.

Ergebnisse:

Urinprobe Nr. 1, 3 min

Präp. Nr. Leukozyten Bakterien pro 8 Gesichtsfeldern

1	0	44
2	25	497
3	17	323
4	1	41
5	19	521
6	17	608
Summe	79	2034

Urinprobe Nr. 1, 10 min

1	22	462
2	0	8
3	9	495
4	12	259
5	28	504
6	0	59
Summe	71	1787

Urinprobe Nr. 2, 3 min

1	11	559
2	0	376
3	11	507
4	2	800
5	0	100
6	10	479
Summe	34	2821

Urinprobe Nr. 2, 10 min

1	7	319
2	4	466
3	3	412
4	5	462
5	0	206
6	0	86
Summe	19	1951

Verhältnis von Bakterien zu Leukozyten

Urinprobe Nr. 1, 3 min:

$$2034 : 79 = \underline{25,7}$$

Urinprobe Nr. 1, 10 min:

$$1787 : 71 = \underline{25,1}$$

Urinprobe Nr. 2, 3 min:

$$2821 : 34 = \underline{83}$$

Urinprobe Nr. 2, 10 min:

$$1951 : 19 = \underline{102,6}$$

Aus den Wertepaaren 25,7 / 25,1 und 83 / 102,6 ist ersichtlich, daß das Verhältnis von Bakterien zu Leukozyten durch eine unterschiedliche Zentrifugationsdauer von einmal 3 min und das andere Mal 10 min keine wesentliche Veränderung erfährt, auch wenn die Gesamt-leukozyten- und Bakterienzahlen bei längerer Zentrifugation um bis zu 30 % verringert werden.

Dieser Teil der Untersuchung ist somit als Vorversuch für eine Methode zur quantitativen Keimzahlbestimmung zu bewerten, wie sie in der Diskussion beschrieben wird. In dieser Methode wird die Konstanz des Verhältnisses von Bakterien zu Leukozyten während der Präparation vorausgesetzt (siehe unter 4).

3.2.3. Reproduzierbarkeit einer für die Auswertung ausreichenden Leukozytenzahl

36 doppelt angefertigte Präparate zeigten gemäß Tab. III zum Teil erhebliche Schwankungen der Zellzahlen bei gleichen Urinproben. Genaue Aussagen über die Konzentration der Zellen im Urin lassen sich somit anhand dieser Methode nicht gewinnen. Wie jedoch der Vergleich mit der Leukozytenzählung in der Fuchs-Rosenthal-Kammer zeigt (siehe unter 3.2.5.1.), liegt dennoch die Rate der falsch negativen Ergebnisse im Bereich von lediglich 3 %. Dies ist mit der Anreicherung von Zellen in dem umschriebenen Bereich des Objektträgers zu erklären (48, 22,3).

Tabelle III

Ergebnisse der Doppelbestimmungen bei 1000 upm und 3 min

Gruppe	Nr.	Präp. Leukozyten						zerstörte		Epithel-			
		I.		II.				zellen		zellen			
		s.seg.ly.	Su.	s.seg.ly.	Su.	I.	II.	I.	II.				
I	1	-	8	2	10	3	72	25	100	38	187	2	-
	2	-	9	4	13	-	-	-	-	-	-	-	-
	7	-	100	-	100	-	4	-	4	14	-	7	-
	12	-	33	4	37	-	1	1	2	37	8	479	80
	22	-	6	-	6	-	-	-	-	26	-	36	-
	14	-	14	4	18	-	8	1	9	27	11	277	130
	15	-	73	1	74	-	87	3	90	26	14	344	401
	16	-	3	-	3	-	-	-	-	1	1	48	7
	19	-	4	-	4	-	-	-	-	2	-	9	5
	20	-	1	-	1	-	6	-	6	2	6	-	4
II	2	-	86	14	100	2	84	14	100	12	15	2	5
	5	2	98	-	100	4	12	1	14	21	93	9	12
	6	-	6	-	6	-	-	-	-	21	7	173	25
	8	-	1	-	1	-	1	-	1	8	2	80	19
	11	-	2	-	2	-	-	-	-	8	-	7	-
	13	-	32	4	36	-	5	1	6	28	355	360	274
	16	-	20	-	20	11	81	8	100	9	30	8	37
	18	-	7	-	7	-	4	-	4	5	4	23	13
	19	-	4	-	4	-	4	-	4	4	9	4	4
	23	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	2	5
III	24	-	51	-	51	-	4	-	4	3	3	21	-
	26	-	13	-	13	-	17	-	17	123	107	10	16
	4	-	14	-	14	-	13	-	13	115	109	22	16
	9	-	18	-	18	-	46	1	47	60	66	1	6
	13	1	89	10	100	2	90	8	100	3	2	-	-
	15	3	92	5	100	2	92	6	100	2	3	1	1
	20	-	7	-	7	-	-	-	-	5	1	24	6
	21	-	-	-	-	-	100	-	100	7	152	2	22
	16	-	71	3	74	-	70	1	71	357	260	91	34
	24	-	97	3	100	-	96	4	100	119	75	148	46
26	1	98	1	100	-	100	-	100	23	24	-	1	
29	-	5	-	5	-	9	-	9	254	9	14	6	
32	-	1	-	1	-	-	-	-	404	225	85	19	

3.2.4. A n t e i l a n z e r s t ö r t e n Z e l l e n

Wie unter 3.1.2. ausgeführt, rechne ich die zerstörten, das heißt morphologisch nicht mehr eindeutig differenzierbaren Zellen den Leukozyten zu. Ihr Anteil an der daraus resultierenden Gesamtleukozytenzahl beträgt im Durchschnitt 36 %. (Bei der Errechnung dieses Wertes wurden von den zerstörten Zellen, soweit deren Anzahl

pro Auszählung eines Einzelpräparates 100 überstieg, nur jeweils 100 mit berücksichtigt, da ja die intakten Leukozyten auch nur bis 100 ausgezählt worden waren. Zwar ist die Relation zwischen intakten und zerstörten Leukozyten, soweit sie die Anzahl von 100 überschreiten, nicht mit erfaßt; sie dürfte jedoch den obenerrechneten Durchschnittswert nicht wesentlich verändern. Für den Einzelfall besitzt dieser auf Grund der starken Streuung der Werte von 0 bis 100 % sowieso geringe Bedeutung.)

Der Anteil an zerstörten Zellen ist von verschiedenen Faktoren abhängig. Im einzelnen spielen die Osmolarität des Urins, sein pH-Wert, seine Temperatur und die Anwesenheit von Bakterien eine Rolle (45,54,43,35,31,13). Es gibt einige Untersuchungen (45,15) über den Grad der Leukozytolyse in Abhängigkeit von der Zeitdauer der Aufbewahrung. Bei Zimmertemperatur ist nach 2 Stunden mit 0 bis 25 % Zellauflösung zu rechnen. Verschiedene Autoren versuchen durch Manipulation von einzelnen Faktoren eine Verlängerung der Leukozytenlebensdauer zu erreichen, damit auch eine verspätete Auswertung einer Urinprobe noch möglich wird. So empfehlen Houghton (1957) und Olbing (1971) Azidifikation alkalischer Urine mit Essigsäure. Eine umfangreiche Untersuchung zur Leukozytolyse im Harn unternahm Straub (1974). Er kommt zu dem Ergebnis, daß selbst bei Kenntnis und Manipulation vieler Einzelfaktoren der ursprüngliche Wert einer verspätet gemessenen Leukozytenkonzentration nicht errechnet werden kann, und empfiehlt daher eine sofortige Auswertung der Urinproben nach ihrer Entnahme.

Da der Urin für Leukozyten grundsätzlich kein Medium darstellt, in dem sie auf längere Zeit lebensfähig bleiben, ist bereits im frisch gelassenen Urin mit einem nicht unerheblichen Anteil an zerstörten Zellen zu rechnen.

Abhängigkeit des Anteils an zerstörten Zellen von der
Art der Aufbewahrung des Urins vor der Zytocentrifu-
gation

61 Urinproben wurden bei Zimmertemperatur aufbewahrt (Tab. IV, Gruppe I-VI und nicht in den Tabellen aufgeführte). 111 Urinproben wurden gekühlt aufbewahrt, indem die Röhrchen mit dem Urin in eine mit Eis gefüllte Schale gestellt wurden (Tab. I-III, Tab. IV, Gruppe VII-IX und nicht in den Tabellen aufgeführte).

Tabelle IV

Ergebnisse bei 1000 upm und 5 min

Gruppe	Nr.	Präp. Leukozyten			zerstörte Zellen	Epithel- zellen		
		s. seg.	ly.	Su.				
I	1	2	92	6	100	35	5	
	3	-	-	-	-	30	5	
	4	-	10	-	10	1	-	
	5	-	5	-	5	4	5	
	6	1	69	4	74	114	15	
	7	-	-	-	-	1	12	
	9	-	-	-	-	-	4	
	II	13	-	10	-	10	10	20
		14	-	4	9	13	-	28
15		2	96	2	100	21	-	
16		3	37	2	42	41	347	
17		4	42	-	46	7	2	
18		-	5	-	5	-	59	
19		-	12	1	13	26	25	
III		3	2	15	12	29	23	6
		4	2	39	1	42	19	1
	5	-	-	-	-	-	25	
	11	-	5	-	5	7	-	
	12	-	70	30	100	12	11	
	16	-	11	1	12	6	6	
	17	1	14	3	18	15	30	
	18	1	98	1	100	-	42	
	IV	8	1	97	2	100	88	-
11		3	86	11	100	4	3	
12		5	46	2	53	-	60	
14		2	95	3	100	1	2	
15		1	94	5	100	27	8	
18		2	93	5	100	33	4	

Tabelle IV (Schluß)

Ergebnisse bei 1000 upm und 5 min

Gruppe	Nr.	Präp. Leukozyten				zerstörte	Epithel-
		s.	seg.	Ly.	Su.	Zellen	zellen
V	3	5	84	11	100	38	4
	4	1	99	-	100	41	4
	6	1	98	1	100	44	7
	8	-	2	1	3	3	19
	9	2	64	34	100	6	8
	10	-	99	1	100	4	2
	11	-	96	4	100	8	8
VI	1	-	99	1	100	19	23
	3	-	9	5	14	8	11
	5	-	99	1	100	35	-
VII	1	1	31	1	33	13	19
	2	-	42	2	44	3	14
	3	-	99	1	100	18	1
	5	-	65	-	65	15	370
	7	-	23	-	23	3	13
	8	-	18	-	18	32	34
	12	1	50	1	52	25	14
	13	-	100	-	100	63	491
VIII	14	2	97	1	100	10	-
	1	-	42	-	42	20	78
	2	3	95	2	100	108	241
	3	-	99	1	100	119	2
	7	1	97	2	100	35	138
	10	-	83	17	100	185	330
	IX	1	-	12	-	12	36
IX	3	1	97	2	100	6	5
	14	-	6	1	7	4	41
	15	-	5	-	5	12	12
	21	-	1	-	1	1	31
	22	-	6	-	6	7	60

(Fortsetzung von S. 18) Diese Maßnahme geschah, um einerseits das Bakterienwachstum zu hemmen, was jedoch nicht unbedingt erforderlich war, da innerhalb von 2 Stunden bei Zimmertemperatur noch keine wesentliche Keimvermehrung stattfindet (11,37, 49, 14,6). Andererseits stand nach den Arbeiten von Houghton (1957), Straub (1974) und nach Zapp (1967) zu erwarten, daß durch Eiskühlung die Rate der Leukozytolyse herabgesetzt würde. Straub (1974) führte die Erhöhung der Leukozytenstabilität auf die Hemmung der Vermehrung ureasespaltender Bakterien zurück.

Die eigenen Ergebnisse erfüllen diese Erwartung nicht: Bei den ungekühlten Urinproben betrug der durchschnittliche Anteil an zerstörten Zellen 24 %, bei den gekühlten 40 %. Da aber der Anteil an zerstörten Zellen in den einzelnen Präparaten sehr stark schwankt und gekühlte und ungekühlte Urinproben von verschiedenen Patienten zu verschiedenen Zeitpunkten entnommen wurden, läßt sich anhand dieser beiden Durchschnittswerte keine signifikante Aussage machen.

Einen besseren Vergleich bieten verschiedene Arten der Aufbewahrung bei ein und derselben Urinprobe (siehe Tab. V). Es wurde jeweils ein Teil der Urinprobe ungekühlt, ein zweiter gekühlt und ein dritter mit einem Zusatz von einigen Tropfen fetalem Kälberserum und gekühlt aufbewahrt. Letzteres geschah in der Erwartung, einen kolloidalen Schutzeffekt für die Leukozytenmembran zu erzielen. Da von nur 7 Urinproben auswertbare Dreiergruppen angefertigt worden sind, läßt sich auch hier keine signifikante Aussage machen.

Table V

Ergebnisse bei unterschiedlichem Aufbewahrungsmodus der Urinprobe: I. ohne Eiskühlung, II. mit Eiskühlung, III. mit Eiskühlung und Zugabe von fetalem Kälberserum

Nr.	Präp. Leukozyten						III.		zerstörte Zellen		Epithelzellen		
	I.		II.		III.		I.		II.		III.		
	s. seg. ly.	Su.	s. seg. ly.	Su.	s. seg. ly.	Su.	I.	II.	I.	II.	III.		
1	7	10	58	1	59	-	3	32	-	1	-	5	
3	6	6	6	-	6	1	19	19	14	6	10	12	
5	3	3	11	-	11	71	141	139	67	-	-	-	
6	3	3	100	-	100	4	100	35	2	-	-	-	
7	29	29	100	3	100	100	104	49	49	236	131	12	
13	96	98	97	-	7	-	15	11	5	7	8	10	
14	61	62	7	-	25	99	14	117	2	-	-	-	
14	97	100	25	-	25	-	100	100	100	-	-	-	

Der durchschnittliche Anteil an zerstörten Zellen von nur 22 % bei Serumzusatz gegenüber 41 % bei Kühlung und 46 % bei ungekühlter Aufbewahrung kann zumindest als Hinweis auf eine zellkonservierende Wirkung des Serums gelten.

3.2.5. Korrelation zwischen Leukozyten im Urin
und weissem Blutbild

Tabelle VI

Patient (ausschließlich „Ädchen“)	Alter (Jahre)	eos. bas. stab. seg. lymph. mono			Zahl/mm ³
G. A.	3	Urin: Blut:	- 3	- -	50 10800
G. A.	12	Urin: Blut:	- -	3 2	2 3800
H. C.	14	Urin: Blut:	- 3	- -	6 20
H. M.	8	Urin: Blut:	- 10	- -	63 400
K. J.	6	Urin: Blut:	- 2	1 13	98 150
M. B.	9	Urin: Blut:	- 8	- 2	42 150
S. M.	10	Urin: Blut:	- 2	1 3	99 200
W. S.	7	Urin: Blut:	- -	- -	100 5
					8300

Aus diesen Vergleichswerten läßt sich eine Korrelation zwischen weißem Differentialblutbild und einer dementsprechenden Differenzierung der im Urin vorkommenden Leukozyten nicht erkennen, insbesondere was das Verhältnis neutrophiler Granulozyten zu Lymphozyten angeht. Eine solche Korrelation war auch nicht unbedingt zu erwarten. Obwohl Stolze (1969) einen durchschnittlich höheren Anteil an Lymphozyten bei Pyurien angibt, findet er doch bei einem analogen Vergleich ebenfalls keine Übereinstimmung.

3.2.6. Quantitative Korrelationen zwischen Ergebnissen verschiedener Methoden

3.2.6.1. Korrelation zwischen der Zahl der Leukozyten, die nach Zytozentrifugation von 5 Tropfen einer Urinprobe auf dem Objektträger gefunden wurden, und der Zahl der Leukozyten pro mm³ der Urinprobe, gezählt in der Fuchs-Rosenthal-Zählkammer

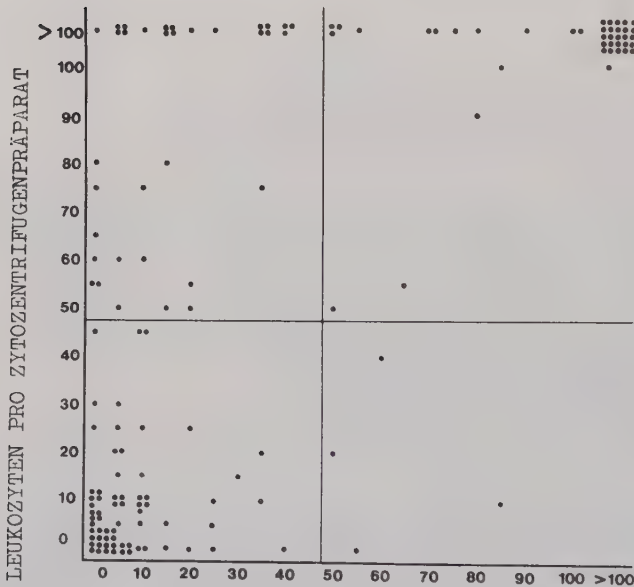
Zentrifugationsgeschwindigkeit: 1000 upm,

Zentrifugationsdauer: 3 min

Es wurden aus oben (3.1.2.) erwähnten Gründen die zerstörten Zellen, deren Herkunft von Leukozyten wahrscheinlich ist, mit in die Leukozytenzahl einbezogen. Wie aus Abb. 6 ersichtlich, besteht eine gute Korrelation, besonders bei hohen und tiefen Zahlen. So gelangt man offensichtlich mit 5 Tropfen Urin (0,2 ml) zu ähnlichen werten wie bei den 0,001 ml Urin im Hämatyzometer. Diese geringe Ausbeute von nur 0,5 % der in den 5 Tropfen tatsächlich enthaltenen Zellen entspricht nach Watson (1966) einem erheblichen Verlust an Zellen, die in das Filterpapier abgesaugt werden. Mögli-

cherweise ließe sich die Wirkung dieser zur seitlichen Abwanderung führenden Kräfte durch schnelleres Erreichen genügend hoher, senkrecht dazu einwirkender Zentrifugalkräfte verringern. Dem Ziel, quantitativ genaue Ergebnisse zu gewinnen, käme man dann dadurch einen Schritt näher, daß man einen Motor mit kräftiger Anfangsbeschleunigung in der Zentrifuge verwendet (48).

Abbildung 6



LEUKOZYTEN PRO mm³ URIN

Zählung in der Fuchs-Rosenthal-Kammer

Sieht man als kritischen Schwellenwert für eine signifikante Leukozyturie die Zahl von 50 Leukozyten pro mm³ Spontanurin im Hämozytometer an (7,41,31), so finden sich nur 4 (3%) falsch negative Ergebnisse auf den

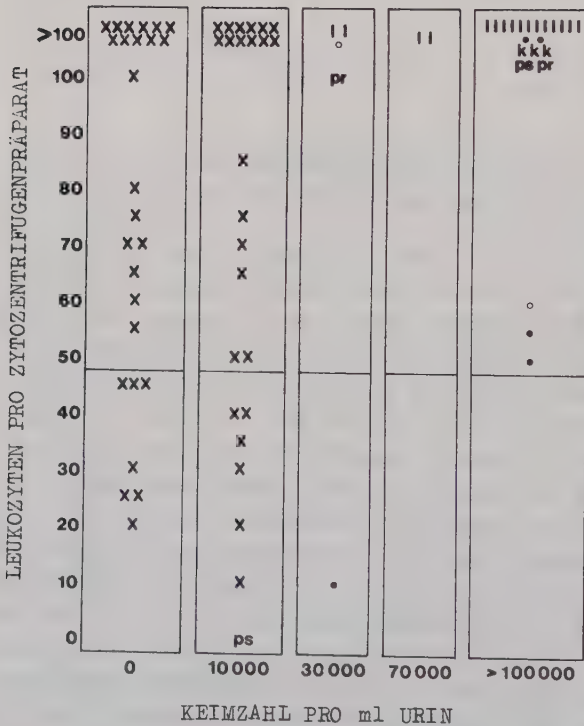
Zytozentrifugenpräparaten. In dieser Hinsicht erweist sich die Leukozytenzählung auf gefärbten Zytozentrifugenpräparaten als wesentlich zuverlässiger, verglichen mit der Untersuchung auf Vorhandensein von Leukozyten im Sediment zentrifugierter Urinproben (38, 53, 34,31, 27,54). Andererseits macht die hohe Rate falsch positiver Ergebnisse (33 = 24 %) die Berücksichtigung weiterer Befunde unumgänglich. Zur diagnostischen Beurteilung besser geeignet scheint ein kritischer Schwellenwert von 100 Leukozyten pro Zytozentrifugenpräparat. Hierbei beläuft sich die Rate der falsch positiven Ergebnisse auf nur mehr 13 %; die Rate der falsch negativen Ergebnisse erhöht sich auf nur 6 %.

3.2.6.2. Vergleich zwischen der Leukozytenzahl auf dem Zytozentrifugenpräparat und der quantitativen Urinkultur

Wie Abb. 7 zeigt, fanden sich bei allen Urinproben mit signifikanter Bakteriurie Leukozytenzahlen von über 50 auf dem Objektträger. Setzt man 50 Leukozyten auf dem Objektträger gleich 50 Leukozyten pro mm^3 Urin, so ergaben sich, ausgehend von einer signifikanten Bakteriurie von mehr als 10^5 Keimen pro ml Urin (4, 19,54,31, 18,25) als diagnostischem Hauptkriterium, keine falsch negativen Ergebnisse bei den Leukozytenzahlen. Setzt man hingegen, wegen der Konzentrierung der Zellen bei der Zytozentrifugation, 100 Leukozyten auf dem Objektträger gleich 50 Leukozyten pro mm^3 Urin, so zeigten zwar alle E. Coliinfektionen signifikante Leukozyturien; bei zwei Streptokokken- und einer Staphylokokkeninfektion blieb jedoch eine signifikante Leukozyturie aus. Das entspricht durchaus Angaben in der Literatur, in denen mehrfach das Auftreten isolierter Bakteriurien beschrieben wird (31,34,46,18,19). Bei 37 Urinproben (46 %), bei denen die Urinkultur keine signifikante Bakteriurie ergab, waren mehr als 50 Leukozyten auf dem Objektträger. Bei 23 Urinproben (29 %),

bei denen die Urinkultur keine signifikante Bakteriurie ergab, waren mehr als 100 Leukozyten auf dem Objektträger. Signifikante Leukozyturien treten also auch ohne signifikante Bakteriurie auf und können in solchem Fall sowohl durch eine Harnwegsinfektion (23,31,34,41) als auch durch andere Erkrankungen verursacht sein (23,41,34).

Abbildung 7

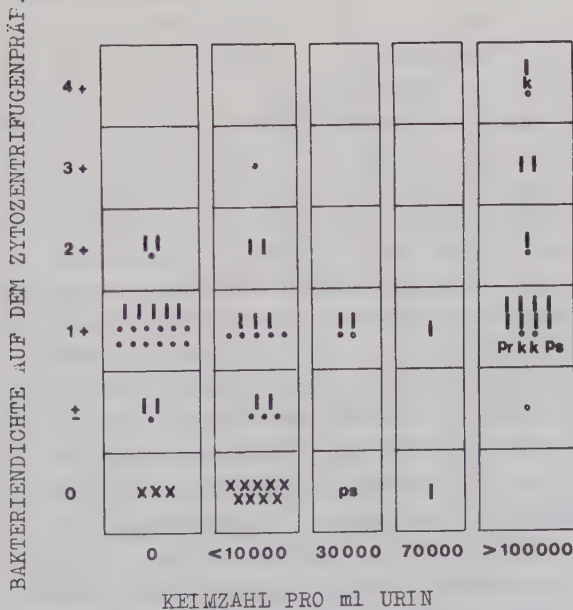


x = keine Differenzierung
 ! = Escherichia Coli
 • = Streptokokken
 o = Staphylokokken
 pr = Proteus
 ps = Pseudomonas
 k = Klebsiellen

3.2.6.3. Korrelation zwischen der Zahl der Bakterien auf dem Zytozentrifugenpräparat und der quantitativen bakteriellen Urinkultur

Die Zahl der Bakterien wurde in einem grobquantitativen Schema erfaßt, wie aus Abb. 8 ersichtlich. Dieses Schema setzt allerdings eine gleichmäßige, diffuse Verteilung der Bakterien auf dem Objektträger voraus. Des öfteren sind sie jedoch in wenigen, aber dichten Haufen gelagert. Dann ergibt sich die Zahl der Bakterien als Durchschnittswert aus mehreren ausgezählten Gesichtsfeldern.

Abbildung 8



x = keine Identifizierung
 ! = Stäbchen, von 30000 aufwärts: Escherichia Coli
 . = Kokken, von 30000 aufwärts: Streptokokken
 o = Staphylokokken pr = Proteus
 k = Klebsiellen ps = Pseudomonas

Noch zu Abbildung 8:

- 0 = keine Bakterien sichtbar
- ± = vereinzelt
- 1+ = 1-10 Bakterien pro Gesichtsfeld
- 2+ = 10-100 pro Gesichtsfeld
- 3+ = zahllos, in lockerem Verband
- 4+ = zahllos, dichtgepackt

Ein bis zwei nicht zu große Bakterienhaufen entsprechen dann dem Grad 1+ des Schemas, während sich die Grade von 2+ bis 4+ auf eine größere Zahl bzw. Ausdehnung der Haufen beziehen. Neuerdings werden spezielle, mit einem Raster versehene Objektträger hergestellt, mittels derer eine quantitative Erfassung von Bakterien und auch Zellen um einiges erleichtert werden dürfte. Abb. 8 zeigt, daß in allen Fällen mit signifikanter Bakteriurie (= mehr als 10^5 Keime/ml Urin) auch Bakterien auf dem Objektträger zu sehen waren. Bei 36 Urinproben (45 %), bei denen sich ein positiver Bakterienbefund auf dem Objektträger zeigte (ab 1+), wuchsen in der Urinkultur weniger als 10^5 Kolonien pro ml Urin. In der Mehrzahl dieser Fälle handelte es sich um Kokken. Nach McLin (1971) sind Keime, die im Methylenblaupräparat des öfteren nachgewiesen werden können, ohne daß sie positive Kulturesergebnisse liefern, hauptsächlich apathogen und bestehen aus Lactobazillen, Smegmazillen und Diphteroiden. Die auf dem Zytocentrifugenpräparat gefundenen Keime, insbesondere die Kokken, entsprechen jedoch schon morphologisch nicht den drei aufgeführten Keimarten. Schon eher läßt sich eine Beziehung zu der Differenzierung der Keimarten in Urinen mit weniger als 10^5 Keimen pro ml finden, wie sie im Rahmen einer Untersuchung von Rupp (1959) erfolgt ist. Hierbei stand *Streptococcus faecalis* in der Häufigkeit an erster Stelle, gefolgt von *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus*, *Escherichia Coli* und *Proteus*. Auch Lüders (1966) gibt als Kontaminationskeime an erster Stelle Kokken an. Es stellt sich die Frage, ob

diese auch als pathogene Erreger vorkommenden Keime lediglich als Kontaminanten zu betrachten sind oder auf eine Harnwegsinfektion mit minimalem bakteriologischem Befund hinweisen, wie sie insbesondere bei Kindern und bei chronischen Verläufen vorkommt (7,23,26,53,5,36, 29). Es gilt auch zu bedenken, daß gerade für Keime mit geringerer Wachstumsrate als *Escherichia Coli*, zum Beispiel für *Staphylococcus aureus*, nichtsignifikante Keimzahlen nicht unbedingt nur Kontamination bedeuten müssen (11). Nach McFayden (1968) konnte man mit *Escherichia Coli* im Tierversuch bei intaktem Harnwegssystem keine Pyelonephritis erzeugen, wohl hingegen mit *Staphylococcus aureus*, Enterokokken und *Proteus*.

4.

D I S K U S S I O N

Die Zählung der Leukozyten im unzentrifugierten Harn in der Fuchs-Rosenthal-Zählkammer und die quantitative Urinkultur haben sich gegenüber anderen Methoden der Harnanalyse als zuverlässiger und genauer erwiesen und werden allgemein bevorzugt (39,38,52,47,40,53).

Von der Leukozytenzählung mit der "Objektträgermethode" (ein Tropfen unzentrifugierten Urins wird auf den Objektträger aufgebracht, mit einem Deckglas abgedeckt und mikroskopisch untersucht) oder von der Leukozytenzählung im gefärbten oder ungefärbten Sediment wird auf Grund der großen Ungenauigkeit von vielen Autoren abgeraten (53,31,38,27,54,34,16).

Die Kammerzählung ist nach Rupp (1959) mit einer Streubreite von weniger als 10 % gegenüber der Sedimentmethode mit 100 % Streubreite sehr genau. Sie besitzt lediglich die Nachteile, daß auf die Unterscheidung von Leukozyten und kleinen Epithelzellen im allgemeinen verzichtet werden muß (39,34,33,15,32,31) und daß Bakterien, insbesondere Kokken (31), häufig nicht miterfaßt werden.

Einen Nachteil der quantitativen Urinkultur stellt die lange Bebrütungszeit dar, die zur Verzögerung der Diagnosestellung führt, wodurch auch die Einleitung einer zumindest an der Keimart orientierten Chemotherapie verzögert wird. Des weiteren besteht die Möglichkeit, daß spezielle, gegebenenfalls durch Chemotherapie vorgeschädigte, pathogene Keime auf den üblichen Nährböden nicht angehen (36,1); hierdurch entstehen falsch negative Ergebnisse. Deshalb wird die zusätzliche Anfertigung eines Gram- oder Methylenblau-Präparates empfohlen, um den Ausgangsbefund im frisch gewonnenen Urin zu dokumentieren und bereits eine vorläufige Orientierung über Keimzahl und Keimart zu erlangen (36, 1,30,26,8,28). Marget (1972) sieht in der Anfertigung solcher Präparate auch eine durchaus brauchbare Screening-Methode zur regelmäßigen Dauerüberwachung chronischer Harnwegsinfektionen. Für die soeben angeführten Aufgabenbereiche eignet sich meines Erachtens besonders gut das gefärbte Zytozentrifugenpräparat:

- 1) Da es eine zuverlässige Ausbeute an Zellen und Bakterien gewährleistet, die nur einen geringen Prozentsatz an falsch negativen Ergebnissen zuläßt (siehe unter 3.2.1.1. und 3.2.1.3.).
- 2) Da es einfach und in nur zwei Arbeitsschritten, nämlich Zentrifugation und Färben, angefertigt werden kann.
- 3) Da die mikroskopische Auswertung durch den begrenzten, zellreichen Bezirk erleichtert ist. Zum einen ist ein leichtes Auffinden dieses Bezirkes möglich, zum anderen ist bei der Untersuchung einer Serie von Präparaten keine Neueinstellung des Mikroskops notwendig.
- 4) Da es die Morphologie der Zellen und Bakterien gut erhält und demonstriert.

In Kombination mit der Zählkammer bieten sich folgende Möglichkeiten: Zum einen lassen sich falsch positive Ergebnisse ausschließen, die durch das vermehrte Auf-

treten kleiner Harnwegsepithelzellen verursacht werden können. Zum anderen läßt sich eine quantitative Keimzahlbestimmung bereits im frisch gewonnenen Urin unmittelbar durchführen. Hierzu wird in der Zählkammer die Zahl der Leukozyten pro mm^3 Urin bestimmt. Auf dem Zytozentrifugenpräparat werden in mehreren (zum Beispiel 5) Gesichtsfeldern Leukozyten und Bakterien gezählt und die Einzelwerte summiert. Dann ergibt sich:

Keimzahl/ml =

$$\text{Leukozytenzahl/mm}^3 \times 1000 \times \frac{\text{Bakterien pro 5 Gesichtsf.}}{\text{Leukozyten pro 5 Gesichtsf.}};$$

Findet man beispielsweise 20 Leukozyten/ mm^3 in der Zählkammer und 5 Bakterien pro einem Leukozyten auf dem Zytozentrifugenpräparat, so ist bereits eine signifikante Keimzahl von $> 10^5$ Keimen/ml erreicht. Diese Methode ließe sich noch einfacher gestalten durch eine Ausarbeitung der semiquantitativen Keimzählung unter Verwendung der mit Raster versehenen Objektträger, die neuerdings hergestellt werden. Es ist jedoch eine vergleichende Untersuchung mit Präparaten von unzentrifugierten, lediglich auf den Objektträger aufgetropften Nativharnproben notwendig, um auszuschließen, daß durch die Präparation mit der Zytozentrifuge das Verhältnis von Leukozyten zu Bakterien verändert wird. Eine solche Veränderung wäre denkbar als Folge einer geringeren Sedimentation oder stärkeren Abschwemmung einer der beiden Komponenten. Als einen Vorversuch kann man die Bestimmung des Verhältnisses von Bakterien und Leukozyten bei verschiedenen Zentrifugationsdauern ansehen (siehe unter 3.2.2.). Hierbei ergab sich eine Konstanz dieses Verhältnisses auch da, wo die Gesamtzahl an Leukozyten und Bakterien wahrscheinlich auf Grund von Abschwemmung um 30 % verringert wurde.

Eine zukünftige Aufgabe besteht darin, die Technik der Zytozentrifuge so zu verbessern, daß eine Verringerung des Verlustes an Zellen in das Filterpapier erzielt wird. Möglicherweise würden hierdurch quantitativ aus-

reichend genaue Ergebnisse erzielt, so daß eine zusätzliche Zählung in der Fuchs-Rosenthal-Kammer nicht mehr erforderlich wäre.

5.

Z U S A M M E N F A S S U N G

172 Urinproben von Kindern mit chronischer Harnwegsinfektion wurden in der Shandon-Zytozentrifuge präpariert, nach Pappenheim gefärbt und mikroskopisch untersucht.

Die Ergebnisse wurden mit quantitativen Leukozyten- und Bakterienzählungen verglichen. Die Morphologie der verschiedenen Zellen und Bakterien war gut erhalten.

Die Leukozytenzahlen des Zytozentrifugenpräparates korrelierten mit den Leukozytenzahlen der Zählkammer.

In allen Urinproben mit signifikanter Bakteriurie fanden sich im Zytozentrifugenpräparat jeweils auch Bakterien und über 50 bis 100 Leukozyten. In 45 % der Proben mit weniger als 10^5 Keimen pro ml Urin sah man jedoch trotzdem auch Bakterien, hauptsächlich Kokken, auf dem Präparat.

Die Urin-Zytozentrifugation eignet sich als Ergänzung zur Methode der Leukozytenzählung in der Zählkammer und zur quantitativen Urinkultur. Sie vermag Nachteile beider Methoden auszugleichen und falsche Ergebnisse zu korrigieren. Sie könnte sich auch als Screening-Methode bei der Überwachung chronischer Harnwegsinfektionen eignen.

Eine Methode zur sofortigen Keimzahlbestimmung im frisch entnommenen Urin wird beschrieben.

6. L I T E R A T U R N A C H W E I S

1. Ambrose, S. A.,
J. H. Hill: Colony counts and chronic pyelonephritis.
J. Urol. 94 (1965), 15.
2. Anders, D.,
I. Anders,
F. C. Sitzmann: Feldstudie zur Epidemiologie inapparenter Harnwegsinfektionen bei Mädchen im Vorschulalter.
Med. Klin. 69 (1974), 1850-1859.
3. Bennet, J. M.,
J. Ruberg,
S. Dixon: A new semiautomated method for the concentration of cerebrospinal fluid for cytologic examination.
Am. J. Clin. Pathol. 50 (1968), 533-536.
4. Blumberg, A.: Vereinfachte Methode zur Urinkeimzahlbestimmung.
Schweiz. Med. Wschr. 99 II (1969), 1086-1089.
5. Breunung, M.,
M. M. Breunung: Kriterien der Keimzahlbestimmung im Urin. I. Mitteilung: Die Vermehrung von Escherichia Coli, Streptococcus faecalis, Proteus vulgaris und Staphylococcus aureus im Urin.
Zentralbl. Bakterirol. 216 (1971), 239-254.
6. Breunung, M.,
M. M. Breunung: Kriterien der Keimzahlbestimmung im Urin. II. Mitteilung: Die Vermehrung von Escherichia Coli im Urin, untersucht an einem Modell der kindlichen Blase.
Zentralbl. Bakterirol. 217 (1971), 63-73.
7. Daschner, F.,
M. Grau,
A. Kölling,
W. Marget: Die Bedeutung nicht signifikanter Keimzahlen bei zuverlässig kontrollierter Therapie chronischer Harnwegsinfektionen.
Monatsschr. Kinderheilk. 121 (1973), 486-488.
8. Deptalla, G.,
W. Münter: Vergleichende Untersuchung zur Erfassung einer signifikanten Bakteriurie.
Dtsch. Med. Wschr. 92 (1967), 2392.
9. Drewinko, B.,
M. P. Sullivan,
T. Martin: Use of the cytocentrifuge in the diagnosis of meningeal leukemia.
Cancer 31 (1973), 1331-1336.

10. Effersoe, P.,
K. Jensen,
J. Rosenbeck-Hansen: Quantitative culture of urine.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 16
(1964), 98.
11. McFayden, J. R.,
S. J. Eykyn: Suprapubic Aspiration of Urin
in pregnancy.
Lancet 1968 I, 1112.
12. Fuchs, T.,
G. Gutensohn: Leukozytenzylindrurie bei Pyelonephritis.
Dtsch. Med. J. 21 (1970),
1249-1250.
13. Gadeholt, H.: Counting cells in urine.
Acta. med. scand. 183 (1968),
49-54.
14. Hirsch, H. A.,
R. Linke: Untersuchungen zur Frage der
Keimvermehrung im Urin, insbesondere bei Zimmertemperatur.
Arch. Hyg. 152 (1968), 186.
15. Houghton, B. J.,
M. A. Pears: Cell excretion in normal urine.
Brit. Med. J. 1957 I, 622-625.
16. Houston, I. B.: Measurement of pyuria in urinary
tract infections.
Arch. Dis. Child. 44 (1969),
480-482.
17. Kay, M.: A peroxidase-staining procedure
for the identification of polymorphonuclear leucocytes and leucocyte casts in the urinary sediment
N. England J. Med. 258 (1958),
1301-1302.
18. Kass, E. H.: Chemotherapeutic and antibiotic
drugs in the management of infections of the urinary tract.
Amer. J. Med. 18 (1955), 764.
19. Kass, E. H.: Bacteriuria and the diagnosis of
infections of the urinary tract.
Arch. intern. med. 100 (1957),
709.
20. Kern, W. H.: Epithelial cells in urinary
sediments.
Amer. J. Clin. Pathol. 56 I
(1971), 67-72.
21. Kern, W. H.,
C. E. Bales: Quantitative studies of urine
cytology.
Amer. J. Clin. Pathol. 51
(1969), 225-228.
22. Komp, D. M.,
B. J. Cox: Cytocentrifugation in the management of central nervous system
leukemia.
J. Pediat. 81 (1972), 992-994.

23. Krepler, D.: Erfahrungen mit der routinemäßigen gleichzeitigen Keim- und Leukozytenzählung im Harn bei Kindern.
Kinderärztl. Prax. 37 (1969), 239-245.
24. Lampert, F.,
A. Brandl,
F. Daschner: Urinalysis with the cytocentrifuge. A method to supplement bacterial culture.
Infection 3 (1975), 40-43.
25. Lampert, F.: Mikroskopische Schnelldiagnosen mit der Zytozentrifuge.
Kinderarzt 6 (1975), 855.
26. McLin, P. H.,
F. R. Tavel: Urinary bacterial culture, stained sediment examination and drug disk sensitivity testing in the office: a study of their usefulness and reliability in the diagnosis and treatment of urinary tract infection.
J. Urol. 106 (1971), 102-105.
27. Linneweh, F.: Quantitative Diagnostik und Therapiekontrolle der Harnwegsentzündungen.
Z. Kinderheilk. 81 (1958), 567-579.
28. Lüders, D.: Bakteriologische Diagnostik.
In Losse und Kienitz: Die Pyelonephritis.
Stuttgart, Thieme (1966), 97-112.
29. Mantel, K.,
W. Marget,
F. Daschner: Harnwegsinfektionen ohne Befunde.
Mschr. Kinderheilk. 118 (1970), 324-326.
30. Marget, W.: Behandlung der Harnwegsinfektionen im Kindesalter.
Med. Klin. 67 (1972), 1168-1172.
31. Olbing, H.: Harnwegsentzündungen bei Kindern und Jugendlichen.
Stuttgart, Thieme (1971).
32. Prescott, L. F.,
B. E. Brodie: A simple differential stain for urinary sediment.
Lancet 1964 II, 940.
33. Prescott, L. F.: Urinary white cell excretion patterns.
Lancet 1965 II, 238.
34. Pryles, C. V.,
C. R. Eliot: Pyuria and Bacteriuria in infants and children.
Amer. J. Dis. Child. 110 (1965), 628-635.

35. Richter, G.: Beobachtungen an Leukozyten und Epithelzellen des Harns während ihres zelligen Abbaus. Urologe 7 (1968), 320-326.
36. Rotter, M.,
P. Wagenbichler: Untersuchung über die Eignung zweier bakterioskopischer Methoden zum Nachweis infektionsanzeigender Keimzahlen im Harn. Wien. Klin. Wochenschr. 82 (1970), 787.
37. Rotter, M.,
P. Wagenbichler: Über die Änderung der Keimzahl im Harn bei Zimmertemperatur. wien. Klin. Wochenschr. 83 (1971), 170-172.
38. Rupp, W.: Kritik der zytologischen Harn-diagnostik. Ärztl. Wschr. 14 (1959), 113.
39. Schreiter, G.: Erste Erfahrungen mit einem Leukozyturie-Schnelltest. Dtsch. Gesundheitsw. 25 (1970), 210-213.
40. Schreiter, G.,
P. Buhtz,
E. Rößler: Die diagnostische Wertigkeit der zytologischen und bakteriologischen Harnuntersuchungen in der Pädiatrie. I. Mitteilung: Vergleich der Harnsedimentmethoden. Dtsch. Gesundheitsw. 26 (1971), 1255-1259.
41. Schreiter, G.,
P. Buhtz: Die diagnostische Wertigkeit der zytologischen und bakteriologischen Harnuntersuchungen in der Pädiatrie. II. Mitteilung: Vergleich von Leukozyturie und Bakteriurie. Dtsch. Gesundheitsw. 26 (1971), 1318-1323.
42. Stansfeld, J. M.,
J. K. G. Webb: Observation of Pyuria in children. Arch. Dis. Childh. 28 (1953), 386-391.
43. Sternheimer, R.,
B. Malbin: The clinical recognition of pyelonephritis with a new stain for urinary sediments. Amer. J. Med. 11 (1951), 312-323.
44. Stolze, M.,
H.-J. Schneider,
E. Dietrich: Die Differenzierung weißer Blutzellen im gefärbten Harnsediment. Z. Urol. Nephrol. 62 (1969), 555-560.

45. Straub, E.,
U. John-Grafe: Zur Leukozytolyse im Harn.
Z. Kinderheilk. 117 (1974),
159-174.
46. Unger, O. G.: Die diagnostische Wertigkeit der
zytologischen und bakteriologi-
schen Harnuntersuchung in der
Pädiatrie.
Stellungnahme zur Arbeit von G.
Schreiber und P. Buhtz, veröf-
fentlicht im Heft 28 (1971) die-
ser Zeitschrift.
Dtsch. Gesundheitsw. 27 (1972),
1194-1195.
47. Veilsgaard, R.,
T. Justesen: Quantitative bacterial culture
of urine.
II. Evaluation of 10 different
screening methods for the dia-
gnosis of bacteriuria compared
with results obtained by the di-
lution technique.
Acta. Med. Scand. 193 (1973),
147-159.
48. Watson, P.: A slide centrifuge: An apparatus
for concentrating cells in sus-
pension onto a microscope slide.
J. Lab. Clin. Med. 68 (1966),
494-501.
49. Wichmann, G.,
K. Lorenz: Über die maximal zulässige Zeit-
spanne zwischen Uringewinnung
und quantitativ-bakteriologi-
scher Verarbeitung der Urinpro-
ben.
Dtsch. Gesundheitsw. 25 (1970),
1319-1322.
50. Wiesmann, E. Medizinische Mikrobiologie.
Stuttgart, Thieme (1974).
51. woodruff, K. Hi: Cerebrospinal fluid cytomorpho-
logy using cytocentrifugation.
Amer. J. Clin. Pathol. 60
(1973), 621-627.
52. Zapp, E.,
B. Jung: Diagnose und Therapie der chro-
nischen Harnwegsinfektion im
Kindesalter.
Pädiatr. Praxis 2 (1963), 557.
53. Zapp, E.,
B. Jung: Untersuchungen zur bakteriologi-
schen und zytologischen Harn-
wegsdiagnostik im Kindesalter.
Med. Mschr. 17 (1963), 485-490.
54. Zapp, E.: Urologie des Kindesalters.
Ferdinand Enke, Stuttgart (1967).

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Fritz Lampert für die freundliche Überlassung des Themas und seine großzügige Unterstützung bei vielen Fragen und Schwierigkeiten.

Ebenfalls zu danken habe ich Herrn Dr. Franz Daschner und den Ärzten und Schwestern der Pyelonephritis-Sprechstunde für ihre Mithilfe.

Rat in vielen praktischen Dingen und aufmunternde Unterstützung fand ich bei den medizinisch-technischen Assistentinnen des hämatologischen Labors der Universitäts-Kinderklinik München.

Lebenslauf

Ich wurde am 12. 3. 1949 in München geboren.

Mein Vater ist Max Brandl, meine Mutter Leonore Brandl, geborene Oppermann.

1955 trat ich in die Volksschule ein und wechselte 1959 auf das naturwissenschaftliche Luitpold-Gymnasium zu München über.

1968 bestand ich die Reifeprüfung.

Im Wintersemester 1969 begann ich das Medizinstudium an der Universität Bonn.

Am 2. 10. 1970 legte ich dort die naturwissenschaftliche Vorprüfung ab.

Im Sommersemester 1971 wechselte ich auf die Universität München über.

Am 7. 5. 1972 bestand ich dort die ärztliche Vorprüfung und am 29. 8. 1975 die ärztliche Prüfung.

Nach Ablauf meiner Medizinalassistentenzeit habe ich vor, die Facharztausbildung in Pädiatrie aufzunehmen.

